This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images, please do not report the images to the Image Problem Mailbox.

(19) JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **10114660 A**

(43) Date of publication of application: **06.05.98**

(51) Int. Cl **A61K 31/725**
A61K 31/695
A61K 45/00
A61K 47/48

(21) Application number: **08267370**

(22) Date of filing: **08.10.96**

(71) Applicant: **TOYOBO CO LTD**

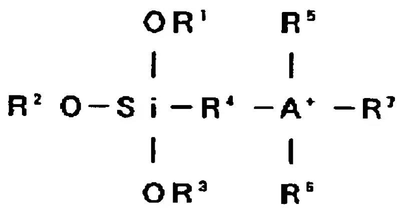
(72) Inventor: **KADOTA NORIKO**
SEKO MASAHIRO
YOKOTA HIDEYUKI
ARIMORI KANA
TANAKA MASAKAZU

(54) ANTITHROMBOGENIC COMPOSITION HAVING ANTIMICROBIAL PROPERTY

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject composition having convenience and general purpose properties and capable of exhibiting long-term antithrombogenic property as well as antimicrobial property by using a mucopolysaccharide-alkoxysilane-containing compound conjugate.

SOLUTION: This antithrombogenic composition comprises an ionic conjugate of (A) at least one kind of mucopolysaccharide, preferably heparin and (B) a quaternary ammonium compound having a trialkoxysilyl group in the molecule or a quaternary phosphonium compound having a trialkoxysilyl group in the molecule. Furthermore, the component B preferably has a structure represented by the formula (A is P or N; R^1 to R^3, R^5 and R^6 are each a 1-12C alkyl, a 6-12C aryl or a 7-20C aralkyl; R^4 is a 1-12C alkylene, a 6-12C arylene or 7-20C aralkylene; R^7 is a 1-25C alkyl) and e.g. 3-(triethoxysilyl)propyl-dimethyloctadesyl ammonium chloride, etc., is preferably used as the component B.



COPYRIGHT: (C)1998,JPO

(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) 公開特許公報（Ａ）　(11)特許出願公開番号

特開平10－114660

(43)公開日　平成10年(1998)５月６日

(51)Int.Cl.6		識別記号	ＦＩ		
Ａ６１Ｋ	31/725	ＡＤＺ	Ａ６１Ｋ	31/725	ＡＤＺ
	31/695			31/695	
	45/00	ＡＣＢ		45/00	ＡＣＢ
	47/48			47/48	Ｚ

審査請求　未請求　請求項の数３　ＯＬ　（全７頁）

(21)出願番号　特願平8－267370

(22)出願日　平成８年(1996)10月８日

(71)出願人　000003160
東洋紡績株式会社
大阪府大阪市北区堂島浜２丁目２番８号

(72)発明者　門田　典子
滋賀県大津市堅田二丁目１番１号　東洋紡績株式会社総合研究所内

(72)発明者　世古　政弘
滋賀県大津市堅田二丁目１番１号　東洋紡績株式会社総合研究所内

(72)発明者　横田　英之
滋賀県大津市堅田二丁目１番１号　東洋紡績株式会社総合研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗菌性付与抗血栓性組成物

(57)【要約】
【課題】　簡便性、汎用性に加え長期間の抗血栓性を発揮すると同時に、抗菌性をも発揮することが可能な抗菌性付与抗血栓性組成物を提供する。
【解決手段】　少なくとも１種のムコ多糖と、分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級アンモニウムもしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級ホスホニウム化合物とのイオン性複合体から成る抗菌性付与抗血栓性組成物。

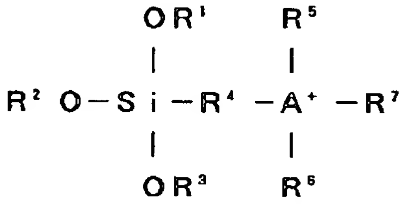
【特許請求の範囲】

【請求項１】　少なくとも１種のムコ多糖類と、分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級ホスホニウム化合物とのイオン性複合体から成る抗菌性付与抗血栓性組成物。

【請求項２】　ムコ多糖類がヘパリンである請求項１に記載の抗菌性付与抗血栓性組成物。

【請求項３】　分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級ホスホニウム化合物が下記化１に示す構造であることを特徴とする請求項１または２に記載の抗菌性付与抗血栓性組成物。

【化１】



化１においてAはP（リン原子）またはN（窒素原子）を示す。R^1、R^2、R^3、R^5、R^6は炭素数１～１２のアルキル基、炭素数６～１２のアリール基あるいは炭素数７～２０のアラルキル基を示す。R^4は炭素数１～１２のアルキレン基、炭素数６～１２のアリーレン基または炭素数７～２０のアラルキレン基を示す。R^7は炭素数１～２５のアルキル基を示す。なお、R^1、R^2、R^3、R^5、R^6、R^7はそれぞれ同じであっても異なっていてもよい。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】本発明は、ムコ多糖類と分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級ホスホニウム化合物のイオン性複合体であることを特徴とする抗菌性付与抗血栓性組成物に関するものである。

【０００２】

【従来の技術】加工性、弾性、可撓性に優れた人工材料は近年医療用材料として広く利用されるようになってきているが、人工腎臓、人工肺、補助循環装置、人工血管等の人工臓器や、注射器、血液バッグ、心臓カテーテル等のディスポーザブル製品として今後益々利用が拡大することが予想される。これらの医用材料としては、充分な機械的強度や耐久性に加えて、生体に対する安全性、特に血液と接触した場合に血液が凝固しないことすなわち抗血栓性が要求される。

【０００３】従来、医療用材料に抗血栓性を付与する手法としては、（１）材料表面にヘパリン等のムコ多糖類やウロキナーゼ等の線溶活性因子を固定させたもの、

（２）材料表面を修飾して陰電荷や親水性などを付与したもの、（３）材料表面を不活性化したものの３通りに大別できる。このうち（１）の方法（以下、表面ヘパリン法と略記する）は、さらに（Ａ）ポリマーと脂溶化したヘパリンのブレンド法、（Ｂ）脂溶化したヘパリンでの材料表面被覆法、（Ｃ）材料中のカチオン性基にヘパリンをイオン結合させる方法、（Ｄ）材料とヘパリンを共有結合させる方法に細分類される。

【０００４】上記の方法のうち（２）、（３）の方法は、長期的に体液と接触した場合に材料表面にタンパクが吸着して生体膜類似表面を形成し、安定した抗血栓性を得ることが可能である。しかしながら、材料を生体内（血液接触部位）に導入した初期段階では生体内において種々の凝固因子等が活性化された状態にあるため、ヘパリン投与などの抗凝血療法を施すことなしに充分な抗血栓性を得るのは困難である。

【０００５】これに対して（１）の方法は、導入初期段階には表面上のヘパリンやウロキナーゼによって抗血栓性または生成した血栓の溶解性能が発揮されるが、長期間の使用によって一般的に性能が低下する傾向にある。すなわち（Ａ）、（Ｂ）、（Ｃ）では、通常生理条件下での長期の使用によってヘパリン類が脱離し易く、生体内に固定して用いる医療用材料としては充分な性能が得られにくい。また、（Ｄ）で得られる材料では、ヘパリンが共有結合されているため脱離しにくいという利点を有するが、従来の結合方法では往々にしてヘパリンの構成成分であるＤ－グルコサミンやＤ－グルクロン酸のコンフォメーションに変化を与えてしまい抗凝血効果を低下させてしまうという欠点がある。

【０００６】また（Ｃ）、（Ｄ）の方法では、ヘパリンの固定化に利用できる官能基を含む材料を選択するかあるいは新たに導入する必要がある。このため材料の選択の幅が狭められたり、官能基の導入によって材料の機械的強度が低下する可能性がある。また操作の煩雑化によって、医療用材料を得る工程数が増加するという問題もある。

【０００７】このように材料の抗血栓性化の容易さ、適用できる材料の選択の幅の広さから考えると、（Ａ）ポリマーと脂溶化したヘパリンのブレンド法もしくは（Ｂ）脂溶化したヘパリンでの材料表面被覆法が最も優れた方法であると言える。しかしながら、この方法の致命的欠点は既述の通り生理条件下での長期の使用によってヘパリン類が脱離し易いという点である。逆に言えば、この欠点を克服することによって簡便性、汎用性に富む優れた抗血栓性化を提供することが可能になる。

【０００８】この問題を解決する手段としては、たとえば特開平２－２７０８２３に開示されている方法がある。この方法は天然ムコ多糖類と天然脂質もしくは合成脂質との複合体を形成させることを特徴としており、ヘパリンと生体内リン脂質の複合体で材料表面を被覆する

技術が好ましい例として挙げられている。しかしながら、この方法はヘパリン溶出に伴って同時に溶出されるカチオン性物質（脂溶化剤）が天然脂質もしくは合成脂質であるため、生体に悪影響を及ぼしにくいという点においてのみ有用であると言える。すなわち、この方法によって長期間使用時のヘパリンの溶出による抗血栓性の低下が解決されたとは言い難い。

【０００９】さらにケイ素含有化合物とヘパリンとの複合体を抗血栓性材料に使用する方法が、特公昭５３－９８００や特公昭５５－２５８５２などに開示されている。しかしこれらの方法では、いずれもシランカップリング剤とヘパリンとを共有結合によって結合させ、得られる含ケイ素改質ヘパリンをさらに成形材料に固定化している。この方法では、共有結合によるコンフォメーション変化によってヘパリンの活性が低下する可能性がある。また特公平３－６６９０４、特開昭６２－１３６２４１にはシランカップリング剤を介して生理活性物質を固定化する手法が開示されているが、これらの方法では成形体表面にアミノ基含有シランカップリング剤を固定化し、導入されたアミノ基を利用して生理活性物質を固定化している。このような方法では生理活性物質の固定化が固一液の不均一系で行われるため、導入効率が低くなってしまう可能性が大きく、実用にはやや問題が残存する。

【００１０】従来、高栄養輸液カテーテル（以下ＩＶＨと略記する）など、長期間体内に留置する必要のある医用デバイスでは生体一材料界面からの感染が問題であった。血液と材料の接触によって生成した血栓に細菌が繁殖し、これが体内に入り込んで感染を引き起こす。したがって、このような医用デバイスに使用される材料には抗血栓性と抗菌性とを同時に併せ持つことが求められる。しかし、こうした抗菌性抗血栓性素材は強く望まれていたにもかかわらず、この分野に応用可能な素材はほとんど報告されていないのが現状である。

【００１１】

【発明が解決しようとする課題】本発明は上記従来技術の欠点を解決して、簡便性、汎用性に加え長期間の抗血栓性を発揮すると同時に抗菌性をも発揮することが可能な抗菌性付与抗血栓性組成物を提供するものである。

【００１２】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するため本発明者らは鋭意研究した結果、ムコ多糖－アルコキシシラン含有化合物複合体を用いることにより、優れた抗菌性および抗血栓性を示し、しかも長期間に及んでその性質が維持されることを見出し、本発明に到達した。即ち、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は、少なくとも１種のムコ多糖類と分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級ホスホニウム化合物とのイオン性複合体から成る組成物であることを特徴とする。さらに好ましくは、上記ムコ多糖類がヘパリンであり、また分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級ホスホニウム化合物が前記化１の構造を有することである。

【００１３】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物を、基材となる一般的なポリマー材料に導入することによって容易に材料の抗血栓性化が可能である。また本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物を使用することによって、長期間の溶出後も非常に優れた抗血栓性を維持することが可能である。さらに分子内の第４級アンモニウムもしくは第４級ホスホニウムの効果によって、抗血栓性と同時に抗菌性も材料に付与させることが可能である。

【００１４】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物を抗凝血剤として導入する基材ポリマーは特に限定されるものではなく、分子内に活性水素を持つ官能基があった場合、アルコキシシリル基との反応によって共有結合を介して第４級アンモニウム化合物もしくは第４級ホスホニウム化合物が導入され、より安定にヘパリンを固定化することが可能となる。具体的にはたとえばセルロース、ポリエーテルウレタン、ポリウレタン、ポリウレタンウレア、ポリ塩化ビニル、ポリエステル、ポリプロピレン、ポリエチレン、エチレンービニルアルコール共重合体（ＥＶＡＬ）、酢酸ビニルービニルアルコール共重合体など従来より使用されているものが挙げられる。また将来使用されるであろう材質も広く適用できる。この中でもセルロース、ポリ塩化ビニル、ポリウレタン、ポリエーテルウレタン、ＥＶＡＬ、酢酸ビニルービニルアルコール共重合体が特に好ましい。また既存及び新規の材質からなる血液透析膜、血漿分離膜、吸着剤などの血液処理剤に抗血栓性を付与する目的で導入することも可能である。

【００１５】基材への導入方法も特に限定されないが、通常のブレンド法、コーティング法の他、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物をポリマーにブレンドした後このブレンド材料をコーティングする方法なども挙げられる。コーティング方法についても塗布法、スプレー法、ディップ法など特に制限されることなく適用できる。一般的にバインダーとして使用させて組成物との混合物をコーティングする方法なども適用できる。またこの際コーティング層をより強固にするために加熱処理を行ってもよい。

【００１６】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物をブレンドによって基材に導入する場合の添加量は特に限定されるものではないが、基材１００重量部に対して抗菌性付与抗血栓性組成物を０．１～６０重量部添加するのが好ましく、１～３０重量部程度の添加がさらに好ましい（以下、基材１００重量部に対して添加剤１重量部を加えた場合、添加剤の添加量を１ｐｈｒと示す）。

【００１７】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物におけ

るムコ多糖類としては、たとえばヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマタン硫酸、ケラタン硫酸などが挙げられる。この中でもヘパリンが特に好ましい。

【００１８】本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物の必須成分である分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級ホスホニウム化合物は、前記化１の構造を有するものが好ましい。分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を持つ第４級ホスホニウム化合物は１種類のみ単独で用いても、何種類かを同時に用いてもよい。化１においてＡはＰ（リン原子）またはＮ（窒素原子）を示す。R^1、R^2、R^3、R^5、R^6は炭素数１～１２のアルキル基、炭素数６～１２のアリール基あるいは炭素数７～２０のアラルキル基を示すものであるが、炭素数１～５のアルキル基であることが好ましい。R^4は炭素数１～１２のアルキレン基、炭素数６～１２のアリーレン基または炭素数７～２０のアラルキレン基を示すが、炭素数１～５のアルキル基が好ましい。またR^7は炭素数１～２５のアルキル基を示すが、炭素数１２～２２のアルキル基が好ましい。なお、R^1、R^2、R^3、R^5、R^6、R^7はそれぞれ同じであっても異なっていてもよい。

【００１９】分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級アンモニウム化合物もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級ホスホニウム化合物としては、具体的にたとえば３－（トリメトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロライド、３－（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロライド、３－（トリメトキシシリル）プロピルジメチルヘキサデシルアンモニウムクロライド、３－（トリメトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルホスホニウムクロライド、３－（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルホスホニウムクロライド、３－（トリメトキシシリル）プロピルジメチルヘキサデシルホスホニウムクロライドなどが例示される。中でも、３－（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロライド、３－（トリエトキシシリル）プロピルジメチルオクタデシルホスホニウムクロライドが特に好ましいが、特にこれらに限定されるものではない。

【００２０】上記ムコ多糖類と分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級アンモニウム塩もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級ホスホニウム塩とのイオン性複合体を得る方法は特に限定されないが、たとえばムコ多糖類の水溶液もしくは分散液と分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級アンモニウム塩もしくは分子内にトリアルコキシシリル基を有する第４級ホスホニウム塩のメタノール溶液もしくは分散液を混合して得られた沈澱を回収、乾燥する方法などが挙げられる。

【００２１】上記のようにして本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物が得られる。本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は分子内にトリアルコキシシリル基を有するために、分子間の架橋反応性に富むことから、複雑に架橋することで複合体のネットワークを形成してより安定になり、基材ポリマーとの結合が強固になることによりヘパリンが溶出されにくくなり、生体成分との接触初期段階ではもちろん接触が長期に及んだ後も良好な抗凝血性が維持できる。また第４級アンモニウムもしくは第４級ホスホニウムの作用によって抗血栓性と同時に抗菌性をも導入することができる。

【００２２】上記のような利点を活かして、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は各種の医療用器具あるいは機器類に使用される素材として広く適用できるものである。具体的にはたとえば、血液透析膜や血漿分離膜およびこれらのコーティング剤、血液中老廃物の吸着用コーティング剤に適用できる。また人工肺用の膜素材（血液と酸素の隔壁）や人工心肺におけるシート肺のシート材料、大動脈バルーン、血液バッグ、カテーテル、カニューレ、シャント、血液回路等の広範囲な分野に用いることができる。また抗菌性も同時に有する特長を活かして、従来、生体－材料界面からの感染が問題であったＩＶＨなどへの適用には特に好適なものである。

【００２３】

【実施例】以下、実施例を用いて本発明を説明する。なお、本発明は特にこれらに限定されるものではない。

【００２４】<実施例１>ヘパリンナトリウム塩１０．００ｇを蒸留水に溶解させて、全量で１００mlとした。３－（トリメトキシシリル）プロピルジメチルアルキルアンモニウムクロライド（以下ＴＳＰＮと略記する）２０．４ｇをメタノール：蒸留水＝１：１の混合溶液２００mlに溶解させ、全量で３００mlとした。双方の溶液を氷冷下で混合し、そのまま４℃で１５時間静置し懸濁液を得た。この懸濁液を３３００ｒｐｍで遠心沈降させて回収し、さらに蒸留水を加え懸濁させた後遠心分離によって沈殿を洗浄する操作を３繰返し、その後沈殿を乾燥させＴＳＰＮ・Ｃｌ－ヘパリン複合体（以下ＴＳＰＮ－Ｈｅｐと略記する）を得た。

【００２５】市販ポリウレタン（Pellethane（商品名）、以下ＰＵと略記する）をＴＨＦに溶解して５％溶液とした。このＰＵ溶液１０００ｇに対し、上記で得たＴＳＰＮ－Ｈｅｐ１．００ｇを加えた。このＴＳＰＮ－Ｈｅｐ／ＰＵブレンド溶液２０ｇを水平に保った１２cm×１２cmのガラス板上に均一に載せ、４０℃で８時間窒素気流下で乾燥後、４０℃で減圧乾燥を１５時間行ない、厚さ約６０μmのフィルムを得た（以下このＴＳＰＮ－Ｈｅｐ／ＰＵブレンド材料を材料Ａ、材料Ａから得たフィルムをフィルムＡと略記する）。なおこの場合、

フィルムＡにはＴＳＰＮ－Ｈｅｐが２ｐｈｒ添加されていることになる。

【００２６】上記フィルムＡ上での血漿相対凝固時間について以下の方法で評価を行った。フィルムＡを直径約３cmの円形に切り抜き、直径１０cmの時計皿の中央に貼りつけた。このフィルム上にウサギ（日本白色種）のクエン酸加血漿２００μｌを取り、０．０２５ｍｏｌ／ｌの塩化カルシウム水溶液２００μｌを加え、時計皿を３７℃の恒温槽に浮かせながら液が混和するように穏やかに振盪した。塩化カルシウム水溶液を添加した時点から血漿が凝固（血漿が動かなくなる時点）までの経過時間を測定し、同様の操作をガラス上で行った場合の血漿凝固に要した時間で割り相対凝固時間として表した。ただし、ガラス板上での凝固時間の１２倍を超えても血漿が凝固しない場合には評価を中断し、相対凝固時間は＞１２と表した。結果を表１に示した。

【００２７】材料Ａ溶液をＴＨＦで希釈して２％とし、この溶液に４０～６０メッシュのガラスビーズを３０分浸漬した後ガラスフィルターで濾過し、窒素気流下４０℃で８時間、４０℃で減圧乾燥を１５時間行ってガラスビーズ表面に材料Ａをコートした。ヒト血清のＰＢＳ（－）２倍希釈液１mlにこのコーティングビーズ１００mgを浸漬し、穏やかに振盪しながら３７℃で３０分間インキュベートした。この液をサンプルとしてＭａｙｅｒ法（Mayer,M.M.，”Complement and Complementfixation”Experimental Immunochemistry 2nd Ed.，p133-240，C.C.ThomasPublisher，1961）により溶血補体価（ＣＨ５０）を測定した。結果はビーズを加えない上記希釈血清１mlにおける補体価を１００％として、百分率によって表１に示した。

【００２８】フィルムＡの抗菌性を以下の方法で評価した。なお一連の操作は全て無菌的に行った。１／５０ブロース液で希釈して、細菌数を約１×１０^{7}個／mlとした黄色ブドウ球菌懸濁液（以下この細菌懸濁液を菌原液と呼ぶ）を調製した。この菌原液における細菌数は次のように定量した。菌原液を１０^{4}倍に希釈した後１００μｌを普通寒天培地上にまき、２４時間後に形成された黄色ブドウ球菌のコロニー数を計測した。このコロニー数をＮ個とすると菌原液の細菌数Ｃは、

Ｃ＝１０^4×Ｎ／０．１＝１０^5×Ｎ［個／ml］

と算出される。この菌原液１０μｌをあらかじめ５cm×５cmに裁断して滅菌し、滅菌シャーレ上においたフィルムＡ上に滴下し、同じ大きさの滅菌済み市販食品包装用ラップを密着させて覆って３７℃で２４時間培養した。培養後被覆ラップを剥離して、フィルムＡと被覆ラップ＊からＳＣＤＬＰ培地１０mlを用いて菌を洗い出し、１０倍に希釈して普通寒天培地上にまいた。２４時間後普通寒天培地上に形成された黄色ブドウ球菌のコロニー数を計測した。このコロニー数をＮ’個とすると、２５cm^2フィルムＡとの接触後の菌数N_aは次の式で与えられる。

N_a＝１００×Ｎ’

フィルムＡと接触する前の菌原液の細菌数は前記Ｃの通りであり、使用した菌原液量は１０μｌであるから、フィルムＡ接触前の菌数N_bは

N_b＝１０００×Ｎ

により算出される。２５cm^2の大きさのフィルム上でのN_bからN_aへの細菌数の変化を表１に示した。接触によって細菌数が減少するということはフィルムの抗菌性が発揮されていることを示す。

【００２９】材料ＡのＴＨＦ４％溶液を調製して、これに既存の人工肺用ポリプロピレン製多孔質ホローファイバーを浸漬して引き揚げ、４０℃で１２時間乾燥することによってホローファイバーへのコーティングを行った。このホローファイバーを使用しｉｎ　ｖｉｖｏで抗血栓性を評価した。実験方法は次の通りである。ペントバルビタール麻酔下でウサギ（日本白色種、♂、２．５～３．０kg）の大腿静脈を剥離して末梢側を糸で結紮し、糸から２～３cmのところを血管鉗子でクランプした。結紮部分の中枢側を眼下剪刀で血管径の１／４～１／３を切り、そこから試料であるホローファイバーを１０cm、中枢側に向かって挿入した。挿入位置から１cmほどのところで血管外に出ているホローファイバーの端部を縫いつけ、ホローファイバーが流されるのを防止した。切開部分を縫合し、抗生物質を投与して、以後試料を取り出すまで２週間にわたって飼育した。２週間後ヘパリン加ペントバルビタールで麻酔下正中切開を施し、腹部大動脈より適当なチューブを用いて脱血してウサギを犠死させた後、ホローファイバーを挿入した部分の血管を切断した。血管を切開してホローファイバーと血管内部を目視により観察し５段階評価を行った。結果を表１に示した。

【００３０】フィルムＡをＰＢＳ（－）に浸漬し、３７℃の振盪恒温槽で２週間にわたって溶出を行った。ＰＢＳ（－）は毎日交換した。以下、溶出後のフィルムをフィルムＡ’と呼ぶ。フィルムＡと同様の方法でフィルムＡ’での血漿相対凝固時間、抗菌性についての評価を行った。結果を表１に示した。

【００３１】

【表１】

	相対凝固時間 (ガラス＝1.00)		補体価 (％)	抗菌性 (×10^5 個／25cm^2)	in vivo 抗血栓性
実施例 1	A	＞１２	９７	６．５０→N．D．	a
	A'	＞１２	－	６．５０→N．D．	－
実施例 2	B	＞１２	－	６．５０→N．D．	－
	B'	１０．８	－	６．５０→０．０１	－
実施例 3	C	＞１２	９５	６．５０→N．D．	a
	C'	＞１２	－	６．５０→N．D．	－
実施例 4	D	＞１２	－	６．５０→N．D．	－
	D'	９．７	－	６．５０→０．０２	－
比較例 1	E	＞１２	８０	６．５０→０．０１	b
	E'	５．４	－	６．５０→０．０６	－
比較例 2	F	＞１２	－	６．５０→N．D．	－
	F'	４．７	－	６．５０→０．１７	－
比較例 3	G	３．１	－	６．５０→６．８０	－
	G'	２．９	－	６．５０→６．７３	－

【００３２】表１におけるｉｎ ｖｉｖｏ抗血栓性の５段階評価は次の通りである。

ａ：血小板凝集、血栓生成、フィブリン生成いずれも観察されない

ｂ：フィブリン生成または血小板凝集は見られるが血栓生成は観察されない

ｃ：フィブリン生成または血小板凝集が見られ血栓生成がわずかに観察される

ｄ：フィブリン生成または血小板凝集が見られ血栓生成がかなり観察される

ｅ：フィブリン生成または血小板凝集が見られ大量の血栓生成が観察される

【００３３】＜実施例２＞実施例１で得たＴＳＰＮ－ＨｅｐをＯ．１％ベンゼン溶液とし、１２cm×１２cmのＰＵフィルム上に３mg／１４４cm^{2}の割合で導入されるように溶液３．００ｇを均一に載せ、４０℃で８時間窒素気流下で乾燥後、４０℃で減圧乾燥を１５時間行ない、厚さ約６０μｍのフィルムを得た（以下このＴＳＰＮ－Ｈｅｐ／ＰＵコーティングフィルムをフィルムＢと略記する）。

【００３４】実施例１と同様の方法でフィルムＢの血漿相対凝固時間および抗菌性を測定した。また実施例１と同様の方法でフィルムＢの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムＢ’の血漿相対凝固時間および抗菌性についても測定した。結果を表１に示した。

【００３５】＜実施例３＞ヘパリンナトリウム塩１０．００ｇを蒸留水に溶解させ、全量で１００mlとした。３＊－（トリメトキシシリル）プロピルジメチルアルキルホスホニウムクロライド（以下ＴＳＰＰ・Ｃｌと略記する）２２．０ｇをメタノール：蒸留水＝１：１の混合溶媒２００mlに溶解させ、全量で３２０mlとした。双方の溶液を氷冷下で混合し、そのまま４℃で１５時間静置して懸濁液を得た。この懸濁液を３３００ｒｐｍで遠心沈降させて回収して、さらに蒸留水で懸濁後遠心分離する沈殿の洗浄を３回行い沈殿を乾燥させ、ＴＳＰＰ・Ｃｌ－ヘパリン複合体（以下ＴＳＰＰ－Ｈｅｐと略記する）を得た。

【００３６】抗菌性付与抗血栓性組成物をＴＳＰＮ－ＨｅｐからＴＳＰＰ－Ｈｅｐに変えた以外は実施例１と同様の方法で、ＴＳＰＰ－Ｈｅｐ／ＰＵブレンド材料Ｃおよび材料ＣからなるフィルムＣを得た。この材料ＣおよびフィルムＣを用いて実施例１と同様の方法で、血漿相対凝固時間、補体価、抗菌性、ｉｎ ｖｉｖｏ抗血栓性を評価した。また実施例１と同様の方法でフィルムＣの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムＣ’の血漿相対凝固時間、抗菌性についても評価した。結果を表１に示した。

【００３７】＜実施例４＞実施例３で得たＴＳＰＰ－ＨｅｐをＯ．１％ベンゼン溶液とし、１２cm×１２cmのＰＵフィルム上に３mg／１４４cm^{2}の割合で導入されるように溶液３．００ｇを均一に載せ、４０℃で８時間窒素気流下で乾燥後、４０℃で減圧乾燥を１５時間行ない、厚さ約６０μｍのフィルムを得た（以下このＴＳＰＰ－Ｈｅｐ／ＰＵコーティングフィルムをフィルムＤと略記

する）。これについても実施例１と同様の評価を行い、結果を表１に示した。

【００３８】<比較例１>ヘパリンナトリウム塩１０．００ｇをｐＨ５．５のＭＥＳ緩衝液に溶解させ、全量で１００mlとした。この溶液と塩化ベンザルコニウム１０％水溶液（以下Ｂｅｎ・Ｃｌと略記する）１１０mlを氷冷下で混合し、そのまま４℃で１５時間静置して沈澱を得た。この沈澱を３３００ｒｐｍで遠心沈降させて回収し、凍結乾燥させることによってＢｅｎ・Ｃｌ－ヘパリン複合体（以下Ｂｅｎ－Ｈｅｐと略記する）を得た。このＢｅｎ－ＨｅｐはベンゼンDMF、クロロホルム等の有機溶媒に可溶であった。

【００３９】抗菌性付与抗血栓性組成物をＴＢＣＰ－ＨｅｐからＢｅｎ－Ｈａｐに変えた以外は実施例１と同様の方法で、ＴＢＬＰ－Ｈｅｐ／ＰＵブレンド材料Ｅおよび材料Ｅから成るフィルムＥを得た。この材料Ｅおよびフィルム Ｅを用いて実施例１と同様の方法で，血漿相対凝固時間、補体価、抗菌性、ｉｎ ｖｉｖｏ抗血栓性を評価した。また実施例１と同様の方法でフィルムＥの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムＥ’の血漿相対凝固時間、抗菌性についても評価した。結果を表１に示した。

【００４０】<比較例２>比較例１で得た材料Ｅ溶液をＴＨＦで希釈して０．１％溶液とし、１２cm×１２cmのＰＵフィルム上に３mg／１４４cm^{2}の割合で導入されるように溶液３．００ｇを均一に載せ、４０℃で８時間窒素気流下で乾燥後、４０℃で減圧乾燥を１５時間行い、厚さ約６０μｍのフィルムを得た（以下このＢｅｎ－Ｈｅｐ／ＰＵコーティングＰＵフィルムをフィルムＦと略＊＊記する）。

【００４１】実施例１と同様の方法でフィルムＦの血漿相対凝固時間および抗菌性を評価した。また実施例１と同様の方法でフィルムＦの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムＦ’の血漿相対凝固時間および抗菌性についても評価した。結果を表１に示した。

【００４２】<比較例３>抗菌性付与抗血栓性組成物を導入していないＰＵフィルム（フィルムＧ）を用いて血漿相対凝固時間、補体価、抗菌性を測定した。また実施例１と同様の方法でフィルムＧの溶出試験を実施し、得られた溶出フィルムＧ’の血漿相対凝固時間、抗菌性についても評価した。結果を表１に示した。

【００４３】表１のように、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は優れた抗血栓性を示しており、しかも溶出後においてもその性能が維持されている。これに対してベンザルコニウムを使用した比較例１、２の材料では、溶出後の性能低下が顕著に見られる。この性能の差がどのような機構によるものかは明らかではないが、本発明の有効性が示唆されている。また抗菌性に関しても本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物が有効であることが示される。

【００４４】

【発明の効果】上述したように、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は優れた抗血栓性および抗菌性を有しており、しかもその性能は材料調製直後のみならず長期間の溶出操作後も維持されるものである。したがって、本発明の抗菌性付与抗血栓性組成物は医療用材料の抗血栓性、抗菌性の両方を向上させた材料として優れた適性を有するものである。

フロントページの続き

(72)発明者 有森 奏
滋賀県大津市堅田二丁目１番１号 東洋紡績株式会社総合研究所内 ※

※(72)発明者 田中 昌和
滋賀県大津市堅田二丁目１番１号 東洋紡績株式会社総合研究所内